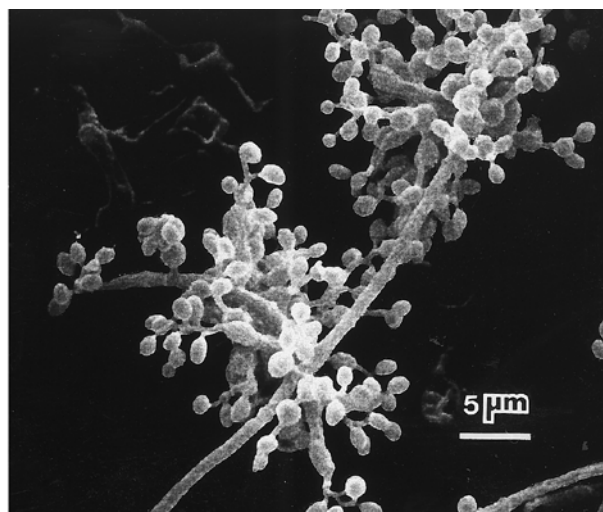


Discovery and Production of Lead Compounds for Medicines from Microorganisms 微生物由来の新しい医薬品素材の開拓

プロジェクトリーダー 大 村 智

北里大学 大学院薬学研究科 客員教授



抗寄生虫剤エバーメクチンを生産する放線菌 *Streptomyces avermitilis* MA-4680 (左) と
マクロファージ油滴形成阻害物質を生産する糸状菌 *Beauveria* sp. FO-6979 (右) の走査型電子顕微鏡写真

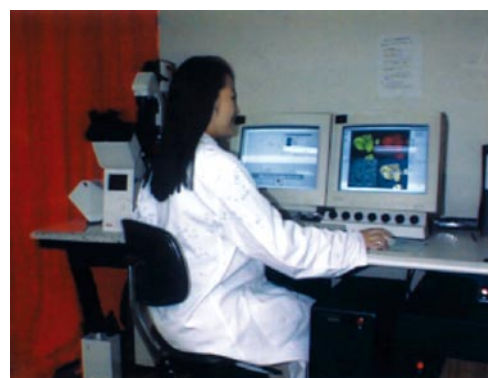
1. 研究の目的

人類が現在利用している微生物資源は実際に存在しているうちのほんの一部にすぎず、さらに利用すべき多くの機能も有しています。歴史を顧みると、ペニシリンやストレプトマイシンなどの抗菌剤のみならず、最近では免疫抑制剤のサイクロスポリンやFK-506、抗寄生虫薬エバーメクチンそしてコレステロール低下剤メバロチンなど人間の叡知を超えた化合物が微生物によって生産され、医薬品として使用されています。

この研究プロジェクトでは、次世紀に向けて人類が克服すべき疾病に焦点をあて、その予防治療薬となる素材をこの無限の可能性を有する微生物資源から開拓すること、また、微生物の遺伝子を機能的に改変することにより、天然には存在しない新しい有用物質を創製する技術を開拓することにあります。

この研究過程では、まず新しい手法により新しい微生物資源を確保し、その培養液を対象に独自に開発した評価系を用いて新規な微生物代謝産物を検索します。そして、得られた化合物の作用機構を分子レベルや細胞レベルで解析し、場合に応じてさらに個体レベルでの評価へ展開し、医薬品素材としての可能性を追求します。

本プロジェクトにより得られた成果は、知的財産として所有権を積極的に獲得することも大きな特色と考えています。



共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡と研究員

2. 研究の内容

次世紀に向けて人類が克服すべき疾病として、特に癌、エイズ、アレルギー、炎症、動脈硬化、肥満などに焦点をあて、その予防治療薬となる素材をこの無限の可能性を有する微生物資源から開拓します。また、抗寄生虫剤として実用化されているエバームекチン生産菌の遺伝子構造とその機能を解析し、これを機能的に改変することにより天然には存在しない新しい有用成分の創製を試みています。

(1) 抗エイズ (HIV) 薬の開拓 (図 1)

組換え細胞による巨細胞形成阻害を指標として HIV の細胞への接着・侵入を阻害する抗 HIV 薬を探索しています。この方法は、研究中に HIV に感染する危険性が全く無いものです。現在、この方法により新しい抗 HIV 活性物質が発見されつつあります。この種の阻害剤の発見により、現在用いられている逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤以外の部位をターゲットとする新しいタイプの抗 HIV 薬の開発が期待されます。

(2) 抗寄生虫剤エバームекチン生成遺伝子群の発現調節機構の解明および非天然新規有用物質創製への応用 (図 2)

放線菌 *Streptomyces avermitilis* の生産する抗寄生虫・抗昆虫活性を有するポリケチド抗生物質エバームекチンのアグリコン部分の生成は真核生物の脂肪酸合成酵素と同様な多機能ポリペプチドであることが遺伝学的な解析で推定されています。本研究では、エバームекチン-ポリケチド合成酵素の機能的解析を目的に、このポリケチド合成酵素をコードする遺伝子領域を詳細に解析し、多機能ポリペプチドを構成するそれぞれのポリケチド合成の基本反応の機能ドメインを明らかにします。さらに、これらの機能領域を人為的に改変し、新たな機能を有するポリケチド合成酵素系を創り出し、これを用いて新しい医薬品素材の創製を試みます。

(3) 細胞接着を指標とする生理活性物質の探索 (図 3)

抗癌剤や抗炎症剤開拓を目的として蛍光標識したヒトリン腫細胞 HL60 と活性化ヒト静脈血管内皮細胞 (HUVEC) との細胞間接着を指標とした評価系を用いています。放線菌、糸状菌の培養液をスクリーニングした結果、環内に 3 個のエステル結合をもつ新規 16 員環マクロライドを見だし macrosphelide (MS) と命名しました。作用機序検討の結果、MS は細胞接着因子の ELAM-1 とシアル化糖鎖との結合を阻害することにより細胞接着を阻害することが示唆されました。B16/BL6 melanoma 細胞を用いた肺癌転移モデルにおいて著明な肺転移抑制効果を示しました。さらに、体重減少を引き起こさない低用量の cisplatin との併用により肺転移は相乗的に抑制されました。今後、癌以外の炎症モデルにおいてもその効果を検討すると共に強力な誘導体合成を目指しています。

(4) 脂質代謝調節機構の解析と医薬品創製への応用 (図 4)

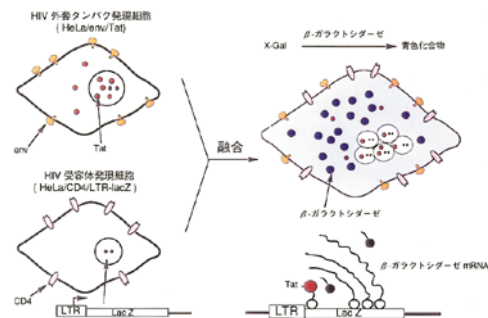
動脈硬化や肥満の疾患モデルとして、マウス腹腔マクロファージが細胞質内に油滴を蓄積し泡沫化する評価系を用いています。放線菌や糸状菌培養液を添加して、マクロファージ内の油滴量を顕微鏡で観察し、それを減少させる化合物の探索を行っています。この過程で、アシル CoA 合成酵素阻害剤トリアクシンがこの油滴形成を完全に阻害することを発見しました (右に示した写真を参考にして下さい)。このことは、その泡沫化を阻害するためにはコレステロールエステル (CE) のみならずトリアシルグリセロール (TG) の生成も同時に阻害することが重要であることを示すものです。この結果を念頭に、現在も有効な化合物を求めて研究を進めています。

3. 研究体制

期 間；1996 年 9 月～2001 年 3 月

構 成：プロジェクトリーダー 1 名、コアメンバー 4 名、研究協力者 15 名 (うち日本学術振興会研究員 1 名、研究補助員数名) で構成されています。そのほか各研究室に所属する大学院生が多数この研究に参加しています。

研究場所：この研究の拠点は北里大学及び (社) 北里研究所であります。北里大学大学院薬学研究科生物有機化学研究室、北里大学薬学部微生物薬品製造学研究室、北里研究所基礎研究所そして北里研究所生物機能研究所が中心となりプロジェクトを推進していますが、全ての研究室が港区白金の同じキャンパス内にあり密接に連絡が取り合える利点があります。



HIV 感染モデルとして構築された組換え細胞による巨細胞形成システム

図 1 HIV 外套タンパク発現細胞と HIV 受容体発現細胞の融合は HIV の細胞への感染をミミックするものであり、この融合を阻害するものは抗 HIV 活性を示す可能性が高い。

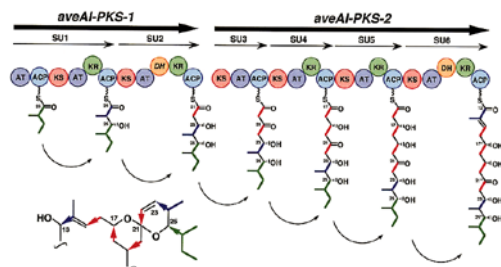


図 2 これまでの解析によりエバームекチン-ポリケチド合成酵素遺伝子のおよそ半分 (32 kbp) が明らかになりました。左下に示したエバームекチンの骨格の一部の生成には 6 回の脂肪酸の縮合反応が関与していることがわかりました。

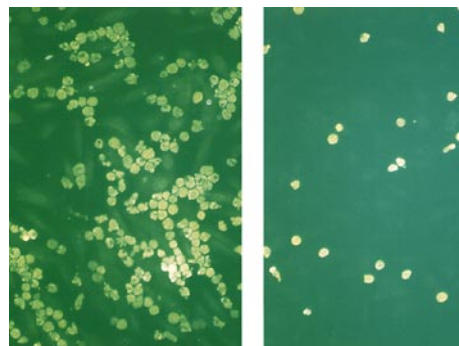


図 3 活性化 HUVEC へ接着した蛍光標識 HL60 細胞は黄色い蛍光で観察されます (左)。この条件下、MS を添加しておくくと HL60 細胞の接着が阻害されています (右)。

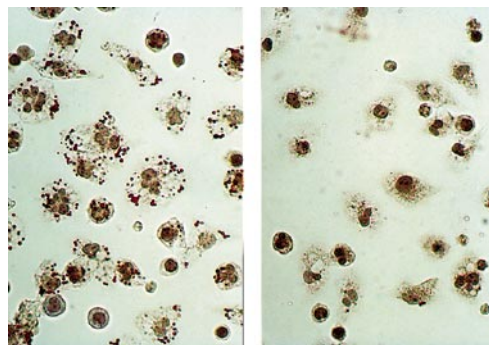


図 4 マウスマクロファージが細胞内に油滴を蓄積しています (左) が、トリアクシン添加により油滴の形成が完全に阻害されました (右)。